

Estudo comparativo da ação do *laser* GaAlInP e do gerador de alta frequência no tratamento de feridas cutâneas em ratos: estudo experimental

Comparative study of laser action GaAlInP and high-frequency generator in the treatment of skin wounds in rats: an experimental study

Hoctavio Pereira Sá¹; Hyezio Moura Nunes¹; Luanna Anielle Evangelista do Santo¹; Geraldo Cardoso de Oliveira Júnior¹; José Mario Nunes da Silva¹; Kelsyanne Castro Carvalho²; Wellington dos Santos Alves³

¹Acadêmicos do curso de Fisioterapia – FSA. Teresina, PI – Brasil.

²Mestre em Engenharia Biomédica – Univap. São José dos Campos, SP – Brasil. Professora da Faculdade Santo Agostinho, Professora – CEUT. Teresina, PI – Brasil.

³Mestre em Engenharia Biomédica – Univap. São José dos Campos, SP – Brasil. Professor da Faculdade Santo Agostinho, Professor – UESPI. Teresina, PI – Brasil.

Endereço para correspondência

Hoctavio Pereira Sá
Quadra 75, casa 23, bairro Saci.
64020-400 – Teresina – PI [Brasil]
hoctaviosa@hotmail.com

Resumo

Introdução: Na fisioterapia, utilizam-se vários tratamentos para acelerar o processo cicatricial, tais como a radiação com *laser* e o gerador de alta frequência. **Objetivo:** Avaliar a ação do *laser* GaAlInP e do gerador de alta frequência no tratamento de feridas cutâneas. **Método:** Realizou-se uma ferida cutânea em 24 ratos Wistar, utilizando um *punch* com 8 mm de diâmetro. Posteriormente, os animais foram divididos em quatro grupos: A, controle; B, *laser* GaAlInP; C, gerador de alta frequência, e D, *laser* GaAlInP + gerador de alta frequência, sendo o *laser* GaAlInP de 670nm, 6 J/cm² e 120 segundos e o gerador de alta frequência com intensidade de 80% e 120 segundos. **Resultados:** Observou-se relevância significativa ($p < 0,05$) entre os grupos B e C em comparação com o A. Destacou-se o grupo D, em que se obteve $p < 0,01$, pois ele se mostrou expressivamente significativo, quando comparado ao controle. **Conclusão:** Conclui-se que a terapêutica combinada (*laser* GaAlInP + gerador de alta frequência) foi eficaz para abreviação do processo cicatricial.

Descritores: Cicatrização de feridas; Lasers; Ozônio.

Abstract

Introduction: Physiotherapy uses various treatments to accelerate the healing process, using laser radiation and high-frequency generator. **Objective:** To evaluate the action of laser GaAlInP and generator high frequency in the treatment of skin wounds. **Methods:** We performed a skin wound in 24 rats using a punch with 8 mm diameter. After, the animals were divided into four groups: Group A, control; B, Laser GaAlInP; C, high-frequency generator, and D, Laser GaAlInP + High-Frequency Generator being the GaAlInP laser (670 nm, 6 J/cm², 120/2) and the generator of high frequency (intensity of 80%, 120/2). **Results:** There was significance ($P < 0.05$) between groups B and C compared with group A, giving emphasis to the group D, which revealed the $P < 0.01$, showing a markedly significant when compared to this control. **Conclusion:** We conclude that the combination therapy (GaAlInP laser + high-frequency generator) was effective for short cicatricial process.

Key words: Lasers; Ozone; Wound healing.

Introdução

A ferida constitui uma interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica, que estimula a defesa do organismo lesionado, iniciando a cicatrização. O processo cicatricial dessas lesões é eficaz e dinâmico fisiologicamente, tendo como finalidade a recuperação da estrutura tissular para manter sua funcionalidade, mesmo com a perda de tecido que ocorre no início da lesão-reparação tecidual¹.

A cicatrização de feridas é complexa e envolve três fases: a) inflamatória, quando se dá a migração celular de leucócitos e plaquetas; b) proliferativa, com o aumento de fibroblastos e mastócitos; c) de remodelação, quando os fibroblastos participam da reestruturação da matriz extracelular e do depósito de colágeno. Entretanto, a dificuldade na cicatrização ocorre principalmente nos estágios iniciais do processo de reparo, em que se observa uma acentuação do edema e uma redução significativa de elementos celulares, tais como leucócitos, macrófagos e fibroblastos².

Os profissionais da área de saúde se deparam constantemente com desafios no tratamento de feridas não cicatrizadas, ou com dificuldade de cicatrização. A fisioterapia tem demonstrado atuar na prevenção e tratamento de tais feridas, usando recursos físicos como o *laser*, que tem grande eficácia na cicatrização, recuperando o tecido por induzir a diminuição do processo inflamatório, aumentando a fagocitose, síntese de colágeno e epitelização^{3,4,5}.

Alguns procedimentos fisioterápicos utilizados no tratamento de feridas atuam no processo cicatricial de várias formas, sendo uma das técnicas mais usadas à irradiação com *laser*. Na laserterapia, podem ocorrer estímulos de mecanismos biológicos e regenerativos, e a maioria dos efeitos registrados diz respeito à proliferação de células, principalmente fibroblastos⁴. Entretanto, segundo Say et al.⁷ a proliferação de fibroblastos não é o único meio pelo qual a laserterapia pode acelerar o processo cicatricial,

verifica-se também que o *laser* promove diferenciação de fibroblastos⁶.

Das múltiplas aplicações do *laser* em medicina, pode-se tirar proveito dos seus efeitos fisioterápicos, baseando-se em sua ação vasodilatadora pré-capilar e capilar. Tais efeitos melhoram a circulação sanguínea; aumentam a oxigenação dos tecidos, o aporte de nutrientes e a retirada de catabólicos e promovem modificações na pressão hidrostática, favorecendo a reabsorção de edemas. Além disso, inibem a síntese de prostaglandinas, elevam o limiar da dor, estimulam a produção de endorfinas e atuam positivamente sob a regeneração tecidual pela elevação do metabolismo^{8,9}.

O aparelho gerador de alta frequência tem sido utilizado como forma de tratamento para afecções de pele e, principalmente, para acelerar o processo de cicatrização de feridas cutâneas por profissionais de Fisioterapia. Atualmente, a ozonioterapia tem sido explorada como uma alternativa terapêutica no tratamento de muitas doenças agudas e crônicas, por ser capaz de intervir no equilíbrio de óxido-redução. O ozônio, sendo um potente oxidante, quando em contato com fluidos orgânicos, promove a formação de moléculas reativas de oxigênio, as quais influenciam eventos bioquímicos do metabolismo celular, o que pode proporcionar benefícios à reparação tecidual, além do efeito antimicrobiano, bactericida e fungicida¹⁰.

Apesar do conhecido benefício da utilização do *laser* e do gerador de alta frequência na aceleração do processo cicatricial, há poucos dados da literatura que comprova tais benefícios. Dessa maneira, torna-se necessário o estudo comparativo do *laser* gálio alumínio índio e fósforo e do gerador de alta frequência na aceleração do processo cicatricial a fim de comprovar a eficácia desses recursos fisioterapêuticos na reparação de feridas cutâneas.

Materiais e métodos

O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética e Pesquisa da

Faculdade Santo Agostinho (Teresina, PI), e obteve aprovação, sob protocolo nº191/09, seguindo os princípios éticos da experimentação animal de acordo com as Normas Internacionais de Proteção aos Animais e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram estudados 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) machos, da linhagem Wistar, pesando entre 220 a 250 g, provenientes do biotério da Faculdade Santo Agostinho (Teresina, PI). A amostra foi dividida em grupos experimentais de seis animais em cada grupo, sendo acondicionados aleatoriamente em caixas específicas para ratos, mantidos desde o nascimento em um ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com alimentação e água *ad libitum* (Tabela 1).

Tabela 1: Divisão de grupos experimentais

Grupo (n=6)	Subgrupo (n=3)	Tratamento
A	A ₃ A ₇	Controle
B	B ₃ B ₇	Laser
C	C ₃ C ₇	Gerador de alta frequência
D	D ₃ D ₇	Laser + gerador de alta frequência

Todos os animais receberam, por via subcutânea, um pré-tratamento com atropina (relaxante muscular), na dose de 0,04 ml para cada 100 g de peso corpóreo, aguardando-se 15 minutos para o procedimento anestésico¹¹. Foram submetidos à anestesia dissociativa com xilazina e quetamina na proporção de 1:1, na dose de 0,1 ml para cada 100 g do peso do animal. Foi realizada a tricotomia na região dorsal 24 horas antes do procedimento cirúrgico. Após a anestesia, executou-se a ferida cutânea, utilizando um instrumento cirúrgico *punch* de 8 mm de diâmetro, sendo posicionado perpendicularmente sobre a área do dorso depilado, localizada na porção média do plano sagital mediano e friccionado contra a pele, realizando uma ferida excisional padronizada ao nível de derme e epiderme

(Figura 2A). Posterior a recuperação anestésica, os ratos foram transferidos para gaiolas, observados e tratados diariamente.

No grupo A (controle), realizou-se a ferida cutânea, sem qualquer tipo de tratamento, todos os animais desse grupo tiveram suas feridas observadas diariamente. O grupo B foi submetido a tratamento com irradiação a laser. A fototerapia foi realizada utilizando-se um laser de Fosfeto de Índio Gálio Alumínio (GaAlInP) de baixa intensidade (*PHYSIOLUX DUAL*, Bioset – Indústria de Tecnologia Eletrônica Ltda., Brasil). A irradiação executada de forma pontual, transcutânea, perpendicularmente à pele do animal, no centro da ferida cutânea (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros de irradiação

Parâmetros do laser	
Diodo	GaAlInP
Densidade de energia	6J/cm ²
Potência	30mW
Comprimento de onda	670nm
Área do feixe	0,09cm ²
Tempo	120s
Números de pontos	1

O grupo C foi tratado com o gerador de alta frequência (*PHYSIOTONUS FACE*, Bioset – Indústria de Tecnologia Eletrônica Ltda., Brasil). A aplicação foi realizada de forma manual com distância de 8 mm da pele, provocando o efeito necessário para a ideal terapêutica (Tabela 3).

Tabela 3: Parâmetros de aplicação

Parâmetros do gerador de alta frequência	
Faixa de amplitude	80%
Tempo	120s
Eletrodo	Standart pequeno

Durante o experimento, foram registradas fotografias digitais por meio de uma câmera digital, FUJIFILM S1800, 10.2 megapixels, Todas as

fotografias foram padronizadas com a mesma luminosidade e uma altura de 15 cm da câmera em relação à ferida no dorso do animal, utilizando um suporte metálico para apoio da câmera.

Para análise da área de lesão, foi utilizado o programa Image-J® (Versão 1,32 para Windows) de domínio público, do Instituto Nacional de Saúde (NIH), Bethesda, EUA.

Após a coleta dos dados, utilizou-se o programa G-Start Student® versão 2.0 para análise estatística da variação da área da ferida cutânea, obtidos nos grupos tratados e no grupo não tratado. Estes foram avaliados quanto ao coeficiente de variação e a distribuição amostral para determinação do teste estatístico, considerando o nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$), podendo obter o resultado para o grau de altamente significativo, pouco significativo, significativo e não significativo.

Resultados e discussão

Toda intervenção tecidual visa à eliminação de patologias e o reparo dos tecidos. Há algumas décadas os mecanismos da reparação tecidual, bem como os fatores que a afetam, vêm sendo objeto de estudo de vários pesquisadores, tanto na área médica como na de fisioterapia.

Na análise comparativa da área de lesão dos animais do grupo controle (grupo A) com tratado com *laser* (grupo B), percebe-se que a reparação é mais favorável e diferencia no irradiado nos períodos experimentais de três e sete dias (Figura 1).

Os resultados obtidos por meio da terapia com *laser* foram altamente satisfatórios, pois demonstram que o *laser* acelera o processo de reparação tecidual e que, quando administrado topicamente, tem grande impactação na cicatrização. Rodrigues¹² realizou estudo semelhante à pesquisa aqui apresentada, analisando o efeito de *laser* de baixa potência em feridas cutâneas em 40 ratos, divididos em quatro grupos de dez: G1 sem exposição ao *laser*; G2 exposição ao *laser* imediatamente após ato cirúrgico; G3 exposição

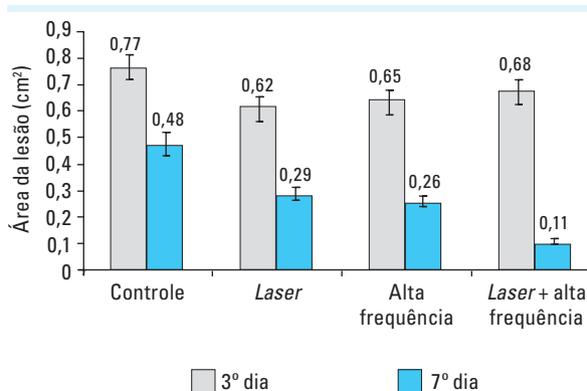


Figura 1: Gráfico comparativo entre o grupo controle e *laser*, controle e gerador de alta frequência, controle e *laser* + gerador de alta frequência no terceiro e sétimo dia de tratamento, $p < 0,05$

ao *laser*, conforme G2 e 48 horas após a cirurgia, e G4, idem ao G3 e após o sétimo dia de cirurgia. Verificou-se que o *laser* favoreceu o processo de cicatrização das feridas e o processo de reparação apresentou-se mais acentuado nos grupos que receberam mais de uma aplicação do instrumento.

Dall Agnol¹³ realizou estudo com o propósito de verificar comparativamente os efeitos biomoduladores da terapia com LED e *laser* no reparo tecidual de feridas cutâneas em ratos com diabetes *mellitus* induzidas, sendo irradiados com LED (640 ± 20 nm, 30 mW, 6 J/cm²) ou *laser* (InGaAlP – 660 nm, 30 mW, 6 J/cm²), verificando que a luz coerente e não coerente produziram efeitos muito semelhantes no reparo das feridas, no período de 168 horas pós-lesão, tanto na análise macroscópica quanto na microscópica. A análise microscópica revelou quantitativa e qualitativamente uma melhor evolução no reparo tecidual para os grupos submetidos à fototerapia.

Nos estudos de Marcon et al.¹⁴, comparou-se o *laser* GaAlInP com comprimento de onda de 670 nm em diferentes tipos de densidades de energia (3 J/cm², 6 J/cm² e 9 J/cm²), e mostrou-se que as variadas densidades de energia aplicadas obtiveram resultados satisfatórios no fechamento total da ferida cutânea em ratos. Tais resultados se coadunam com os estudos de Low e Reed¹⁵ e Rigau¹⁶ que relataram que as faixas

usuais para acelerar o processo de cicatrização de 1 a 10 J/cm².

Kameya et al.¹⁷, em suas pesquisas, observaram que aplicações diárias de *laser*, com diferentes comprimentos de onda (632,8nm para He-Ne, 680nm para AsGaAl e 830nm para AsGaAl), em ferimentos cutâneas de ratos, provocam redução estatisticamente significativa na contração da ferida, quando comparada ao grupo controle. Além da aceleração da reparação, demonstraram que os eventos biológicos são mais acentuados nas feridas tratadas com He-Ne (632,8nm) e AsGaAl (680nm) quando comparados com o *laser* de AsGaAl (830nm).

Da mesma forma, ao se comparar as feridas do grupo A com as do C, tratadas com o alta frequência, evidenciou-se que as tratadas apresentam também processo de reparação, em todos os períodos experimentais observados. Foi utilizado, ainda nessa comparação estatística, o teste "t" Student, evidenciando o grau de significância $p < 0,05$, o que comprovou que o grupo C em detrimento do A, se sobrepôs tanto no terceiro como sétimo dia de tratamento (Figura 1).

Borges¹⁸ demonstrou a eficácia do gerador de alta frequência em úlceras de pressão, aplicando durante 5 semanas, diariamente, por 15 minutos, no interior e ao redor da lesão, utilizando para isso o eletrodo tipo pico, faiscando sem que o eletrodo tocasse a lesão tecidual, na qual teve resultados satisfatórios no fechamento da úlcera.

Ainda nesse perfil de análise, é notória a diferença entre as feridas do grupo D – tratadas com aplicação do *laser*, seguida da administração do gerador de alta frequência –, com as do grupo controle. Os achados comprovam que a associação de ambas as terapias nos parâmetros usados neste estudo, contribuiu para a melhora da reparação tecidual. O teste "t" Student foi utilizado nessa comparação estatística para que fosse possível constatar a significância do grupo D em detrimento do A, o que se observou foi o $p < 0,01$, resultado esse que comprova um grau de alta significância entre os dois grupos, tanto no terceiro como no sétimo dia de tratamento (Figura 1).

Pode-se observar, neste estudo, a prevalência da terapia combinada (*laser* + gerador de alta frequência), em relação aos demais grupos analisados, reforçando o caráter complementar desses recursos e mostrando-se altamente significativa, quando esse é comparado ao controle. Apesar de não haver estudos comparativos cientificamente comprovados entre essas duas modalidades terapêuticas, é possível verificar a eficácia de tais recursos na reparação tecidual.

Soares¹⁹ demonstrou que todas as formas de tratamento aplicadas em feridas cutâneas em ratos se mostraram eficazes e observou que a aplicação de *laser* associado à vitamina C foi a terapia mais eficaz do que ambos os tratamentos aplicados isoladamente para tratar desse tipo de ferimento nesses animais.

Por meio da análise dos resultados obtidos neste estudo, pode-se verificar que as feridas cutâneas, tratadas somente com *laser* GaAlInP (grupo B), ou apenas com gerador de alta frequência (grupo C) ou com a associação de ambos (grupo D), apresentaram processo de reparo cicatricial mais favorável e diferenciado que as do grupo I (controle), que não receberam nenhum tipo de terapia, tanto no terceiro como no sétimo dia do tratamento (Figura 2).

Este estudo demonstra a possibilidade do uso tópico de *laser* de baixa intensidade e gerador de alta frequência para promover a aceleração da reparação tecidual. Entretanto, acredita-se que novas pesquisas ainda deverão ser realizadas, contribuindo ainda mais para consolidar o emprego dessas duas modalidades terapêuticas na fisioterapia atual.

Conclusões

Nesta pesquisa foi possível observar que:

- Todos os tratamentos propostos mostraram-se efetivos na reparação de feridas cutâneas, quando comparados ao grupo controle (não tratado).

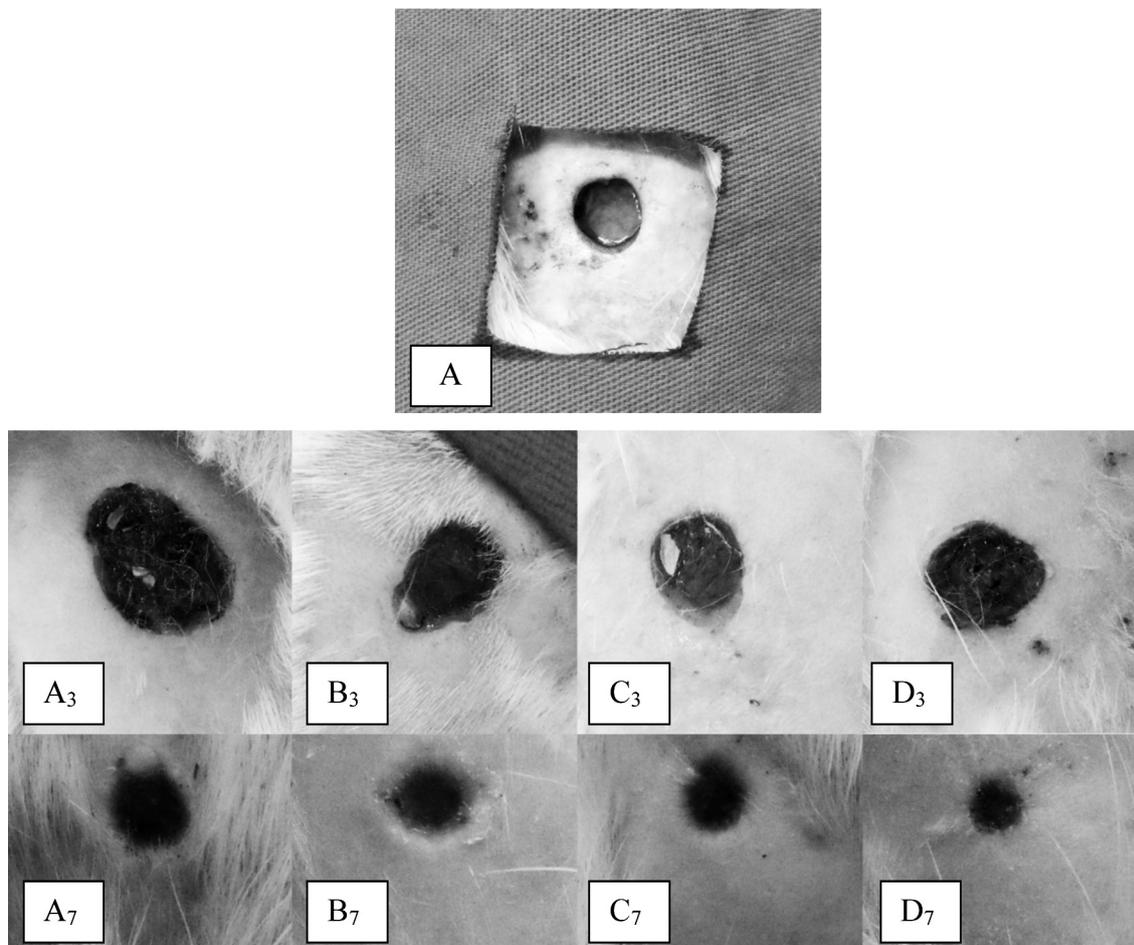


Figura 2: Imagens dos grupos experimentais nos diferentes momentos da reparação tecidual. A) Início da lesão. Grupo controle (A_3 , A_7), grupo *laser* (B_3 , B_7), grupo gerador de alta frequência (C_3 , C_7), grupo *laser* + gerador de alta frequência (D_3 , D_7)

- O uso tópico de *laser* em baixa intensidade associado ao gerador de alta frequência foi o que mostrou resultados mais favoráveis, em todos os períodos da cicatrização.
- A utilização isolada do *laser* em baixa potência ou do gerador de alta frequência mostrou-se efetiva sobre a cicatrização, com evidências mais favoráveis do que as feridas não tratadas (controle).

Referências

1. Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. Anais Bras. Dermatol. 2003;78(4):393-408.
2. Carvalho PTC, Mazzer N, Reis FA, Belchior, ACG, Silva IS. Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. Acta Cir Bras, São Paulo. 2006 jul;21(3):177-83.
3. Hopkins JT, Mcloda TA, Seegmiller JG, Baxter GD. Low-level laser therapy facilitates superficial wound healing in humans: a triple-blind, sham-controlled study. J Athl Train. 2004;39(3):223-9.
4. Benvindo RG, Braun G, Carvalho AR, Bertolini GRF. Efeitos da terapia fotodinâmica e de uma única aplicação de laser de baixa potência em bactérias in vitro. Fisioter Pesqui. 2008;15(1):53-7.
5. Guirro RRJ, Guirro EC. Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos, recursos e patologias. 3ª ed. São Paulo: Manole; 2002.

6. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia celular e molecular*. 5ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
7. Say K, Gonçalves R, Rennó A, Parizotto N. O tratamento fisioterapêutico de úlceras cutâneas venosas crônicas através da laserterapia com dois comprimentos de onda. *Rev Fisioter Bras*, Rio de Janeiro. 2003 jan/fev;4(1):39-47.
8. Cruaños, J. C. *La terapia laser, hoy*. Barcelona: Centro Documentación Laser de meditec, S. A, 1984. p. 164.
9. Harris DM. Biomolecular mechanisms of laser bioestimulation. *J Clin Laser Med Surg*. 1991;9:277-80.
10. Traina AA. Efeitos biológicos do ozônio diluído em água na reparação tecidual de feridas dérmicas em ratos. 2008. 124f. [tese de doutorado em cirurgia e traumatologia buco-maxilo faciais]. São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia: Universidade de São Paulo. 2008.
11. Yasukawa A, Ohru H, Koyama Y, Nagay M, Takakuda K. The effect of low reactive-level laser therapy (LLLT) with helium-neon laser on operative wound healing in rat model. *J Vet Med Sci*. 2007;68(8):799-806.
12. Rodrigues SSFG, Sotto-Maior BS, Aquino DR, Anbinder AL. Efeitos do laser de baixa potência, sob diferentes protocolos, no reparo de feridas cutâneas em ratos. *ClipeOdonto*, São Paulo. 2006;1(1):31-7.
13. Dall Agnol MA, Nicolau RA, LIAM CJ, Munin E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. *Lasers Med Sci*. 2009;24(6):909-16.
14. Marcon K, André E S. Efeitos do laser GaAlInP no processo de cicatrização de feridas induzidas em ratos. *Rev Fisioter FURB*. 2005;1(1):1-7.
15. Low J, Reed A. *Eletroterapia explicada: princípios e práticas*. 3ª ed. Barueri, SP: Manole. 2001. p. 457.
16. Rigau J. *Acción de la luz laser a baja intensidad em la modulación de la función celular*. [tese]. 1996. Barcelona: Universidad de Barcelona; 1996.
17. Kameya T. et al. Effect of different wavelengths of low level laser therapy on wound healing in mice. *Laser Therapy*. 1995;7:33-6.
18. Borges FS. *Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas*. São Paulo: Phorte; 2006.
19. Soares FRL. *Reparação de feridas cutâneas tratadas com vitamina C, laser e a associação de vitamina C e laser: estudo histológico em ratos*. 2005. 80f. [dissertação Mestrado em Odontologia]. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de Marília (UNIMAR); 2005.